

THESIS

WÜRZBURG

1967

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

**Experimentelle Untersuchungen zu der Frage:
Findet bei der Verbrennungskrankheit eine
immunologische Umstimmung statt?**

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

vorgelegt von
Anita Heineck
aus Ahrweiler

Würzburg 1967

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

**Experimentelle Untersuchungen zu der Frage:
Findet bei der Verbrennungskrankheit eine
immunologische Umstimmung statt?**

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Anita Helneck
aus Ahrweiler

Würzburg 1967

Referent : Priv. Dr. Dr. med. H. Hüner

Korreferent : Professor Dr. med. W. Wachsmuth

Tag der Promotion :

8. 5. 68

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
1. Definition: AG, AK, AG--AK-Reaktion	1
2. Ursachen einer AG-Bildung bei der Verbrennung	4
3. Theorie immunologischer Vorgänge	4
II. 1. Fragestellung: Kommt dem Verbranntenserum eine Schutzwirkung zu ?	7
2. Tierversuche:	7
a) Methode	7
b) Nachweisverfahren	7
c) Versuchsbeschreibung	9
d) Diskussion	17
3. Fragestellung: Enthält das Brandblasenserum struk- turell veränderte Eiweißkörper ?	18
a) Papierelektrophorese	18
b) Immunelektrophorese	18
c) Diskussion	23
III. Zusammenfassung	24
Literaturverzeichnis	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0214

I. EINLEITUNG

Seit Anfang dieses Jahrhunderts wird die Frage diskutiert, ob bei der Verbrennung neben dem physikalischen Trauma auch eine immunologische Umstimmung des Organismus stattfindet. Darunter ist in diesem Fall zu verstehen, daß körpereigenes Eiweiß durch die Hitze und vor allem durch die posttraumatischen starken fermentativ-proteolytischen Stoffwechselprozesse strukturell so verändert wird, daß es für den Organismus einen Antigencharakter bekommt. Auf diese infolge der Verbrennung entstandenen Antigene wird der Organismus physiologischerweise mit der Bildung von spezifischen Antikörpern antworten. Aus der zu erwartenden Antigen-Antikörperreaktion ließen sich eine Reihe von pathophysiologischen Reaktionsabläufen der Verbrennungskrankheit ableiten. So z. B. das Auftreten eines protrahierten Schockzustandes lange Zeit nach der eigentlichen Verbrennung.

1. Als Antigen (AG) definiert man Substanzen, welche die Bildung von Antikörpern im lebenden Organismus veranlassen und sich mit diesen, durch sie indirekt gebildeten, spezifischen Substanzen vereinigen können.

Die Antigene können exogenen und endogenen Ursprungs sein. Endogene Antigene (Autoantigene) entstehen, wenn eine körpereigene Substanz durch eine Noxe so verändert wird, daß sie für den Organismus zum störenden Fremdkörper wird.

Dabei scheint die Molekülgröße keine allein entscheidende Rolle für die Stärke der antigenen Eigenschaften zu spielen. Eine Antikörperbildung wird zwar bevorzugt von Makromolekülen induziert, doch genauso vermögen dies proteolytische Eiweißspaltprodukte. Außer Eiweißkörpern haben auch hochpolymerisierte Polysaccharide antigene Eigenschaften. Die Spezifität eines Antigens beruht nach Landsteiner auf der Struktur und der räumlichen Anordnung seiner chemischen Gruppen.

Die Antikörper (AK) sind makromolekulare Globuline. Für einzelne gereinigte Antikörper ist der Gehalt an Aminosäuren bestimmt worden. Dabei hat sich gezeigt, daß sie sich in diesem Punkt nicht von den analogen Globulinen des normalen Serums unterscheiden. Die Eigenschaft, mit den Antigenen spezifische Bindungen einzugehen, muß auf einer für jeden einzelnen Antikörper charakteristischen räumlichen Konfiguration beruhen. Diese genau zu klären, ist bis heute nicht gelungen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß man trotz der bereits in vielen Fällen bekannten physikalischen, chemischen und antigenen Eigenschaften noch nicht in der Lage ist, die Antikörper mit Sicherheit von den Serumglobulinen zu unterscheiden. Um sie nachzuweisen, ist man auf die Gegenwart eines spezifischen Antigens angewiesen (P. GRABAR).

Als Bildungsort der Antikörper nimmt man die Plasmazelle an, jedoch nehmen wahrscheinlich auch andere Zellformen, z. B. die Lymphozyten, an ihrer Entstehung teil.

Versuche mit radioaktiv markierten Antigenen (Proteine) haben gezeigt, daß sich diese Substanzen nach einiger Zeit in den Zellen des RES finden. Nach P. GRABAR, der sich bei seinen Überlegungen auf die Hypothesen und experimentellen Ergebnisse von BREINL, HAUROWITZ, ALEXANDER, MUDD, PAULIG einerseits und auf BURNET, FENNER und COONS andererseits beruft, kann man sich den Mechanismus der Antikörperbildung etwa folgendermaßen vorstellen: Das Antigen gelangt durch Phagozytose oder Pinozytose in eine Zelle. Dort wird es von den Zellfermenten angegriffen und aufgespaltet. Die Bruchstücke werden frei und wirken unabhängig voneinander. Sie gelangen auf bisher nicht geklärte Weise in eine andere Zellart, wo sie die Antikörperbildung induzieren. Diesen letzten Schritt kann man sich auf zweifache Weise erklären:

a) Das Antigen modifiziert das enzymatische System in der Zelle, welches für die Synthese der art- oder gewebsspezifischen Proteine zuständig ist. Es ändert gleichsam die Matrice.

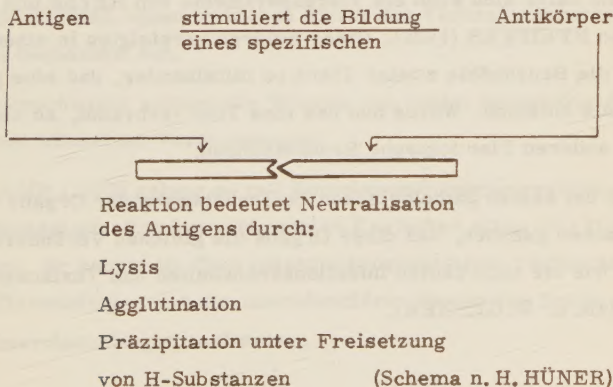
b) Das Antigen greift erst dann ein, wenn es um die Faltung der Peptidkette geht. Indem es die Faltung ändert, entsteht kein normales Globulin, sondern der in seiner räumlichen Struktur auf das Antigen spezifisch passende Antikörper.

Die Zellen, in denen sich dieser entscheidende Schritt vollzieht, müßten diejenigen sein, aus denen die Plasmazellen heranreifen, welche ihrerseits die Antikörpersynthese aufnehmen (P. GRABAR).

P. GRABAR glaubt, daß dieser schrittweise Vorgang eine Erklärung für die Latenzzeit sei, die zwischen der ersten Berührung des Organismus mit dem Antigen und dem Auftreten der Antikörper liegt.

Gehen nun die Plasmazellen zugrunde, könnte eine weitere Antikörperbildung nur erfolgen, wenn entweder noch induzierendes Antigen anwesend ist, oder die geformte Matrice nach dem Absterben der Zellen von anderen Zellen aufgenommen wird. In beiden Fällen würde die Lebensdauer des Antigens oder der Matrice die Dauer der Antikörpersynthese begrenzen.

Man unterscheidet heute bereits zwischen humoralen und zellständigen Antikörpern. Die ersteren lassen sich z. B. immunoelektrophoretisch direkt nachweisen, letztere dagegen sind mit der Fluoreszenzmikroskopie nur indirekt darstellbar.



Treffen die Antigene mit den ihrer räumlichen Struktur angepaßten Antikörpern zusammen, so vereinigen sie sich zu einem Antigen-Antikörperkomplex. Diese Vereinigung ist, genau wie die Antikörpersynthese, ein physiologischer Vorgang. Die Auswirkung dieser AG-AK-Reaktion kann für den Organismus sowohl einen phylaktogenen Effekt - z.B. bei Tetanus und Diphtherie, wo das Antitoxin(AK) das Toxin (AG) neutralisiert - als auch einen pathogenen Effekt haben. Ist ein Antigen an der Zelloberfläche verankert, so kann die Vereinigung mit einem Antikörper zur Lyse der Trägerzelle führen. Ein Beispiel dafür ist die Hämolyse, die eintritt, wenn gruppenunverträgliches Blut aufeinandertrifft (P.GRABAR).

2. Für die Bildung von antigenen Substanzen bei der Verbrennung bestehen nach theoretischen Überlegungen zwei Möglichkeiten:

- a) Durch die Hitze wird lokal das Gewebeeiweiß denaturiert.
- b) In der Wundumgebung erfolgt ein überstürzter Eiweißabbau, in dessen Verlauf nicht nur quantitativ- sondern auch qualitativ unphysiologische Eiweißkörper anfallen können.

Über Blut- und Lymphweg wird der Organismus mit dem körperfremd gewordenen Eiweiß und dessen Spaltprodukten überschwemmt.

3. Diese genannten Stoffe wirken toxisch, was sich durch die pathologischen Veränderungen, die nach einer intensiven Verbrennung an fast allen Organen zu finden sind, erklären läßt (W.GREUER).

Beweisend dafür sind auch die Tierexperimente von HEYSE und VOGT (1913), sowie von PFEIFFER (1925). Diese Autoren vereinigten in einem Symbioseversuch die Bauchhöhle zweier Tiere so miteinander, daß eine gemeinsame Bauchhöhle entstand. Wurde nun das eine Tier verbrannt, so zeigten sich bei dem anderen Tier toxische Erscheinungen.

ZINK hat bei seinen pathologischen Untersuchungen der Organe verbrannter Menschen gesehen, daß diese Organe die gleichen Veränderungen aufwiesen, wie sie nach akuten Infektionskrankheiten und Toxikosen gefunden werden (zit. n. W.GREUER).

Die Untersuchungen von SCHILLING über das Verhalten des weißen Blutbildes ergaben, daß die Veränderungen nach einer Verbrennung genau die gleichen sind, wie sie nach einer akuten Infektionskrankheit gesehen werden.

Es lag daher die Vermutung nahe, daß bei der Verbrennung genau wie bei der Infektionskrankheit das Toxin mit der Bildung eines Antitoxins beantwortet wird.

GREUER (1943) vermutete, daß das Verbrennungstoxin einen Antigencharakter hat. Er beruft sich dabei auf die experimentellen Ergebnisse von SCHÜTZ (1930), die bei Versuchstieren nach wiederholten Verbrennungen eine Änderung des Reaktionszustandes gegenüber neuen Verbrennungen zeigten. Außerdem erzielte SCHÜTZ mit Extrakt aus verbrannter Haut bei vorher ein- bis zweimal verbrannten Meerschweinchen eine positive Hautreaktion.

NAKAIGAWA glaubt, daß die Widerstandsfähigkeit von Kaninchen erhöht wird, wenn die Verbrennungen in gewissen Zeitabständen gesetzt werden. Diese Vermutung und die Versuchsergebnisse von MORGUE-MOULINES (1930) unterstützen die Annahme GREUER's. Letztgenannte Autoren berichten von einer erfolgreichen Therapie mit Rekonvaleszentenserum. Sie gingen hierbei von der Vorstellung aus, daß dieses Serum zumindest für eine gewisse Zeit Antikörper enthält und so passiv immunisieren kann.

Von gleichen therapeutischen Erfolgen berichten russische Autoren, wogegen ROSENTHAL einen toxischen Effekt des Verbranntenserums auf Zellkulturen beobachtet hat.

Neuere Untersuchungen stützen die Theorie von einem immunologischen Geschehen bei intensiven Verbrennungen.

O. HAFERKAMP (1962) gelang es mit Komplementbindungsreaktion und passiver Hämagglutination bei verbrannten Kaninchen einen AK-Titer nachzuweisen. Er konnte im fluoreszenzmikroskopischen Verfahren die AK an den Kapillarschlingen und den interalveolären Septen der Lunge sowie auf den Glomerulaschlingen nachweisen.

L. KOSLOWSKI (1962) hat bei seinen Tierexperimenten mit Ratten und Kaninchen eine Präzipitationsreaktion zwischen Extrakten aus verbrannter Haut und einem im Serum befindlichen AK nachgewiesen.

Von der Vorstellung ausgehend, daß im Brandblasenserum Verbrannter modifiziertes, möglicherweise antigenes Eiweiß enthalten ist, setzte H. HÜNER (1965) dieses Brandblasenserum mit dem Blutserum des betroffenen Patienten an. Er sah eine deutliche Präzipitation und folgerte daraus, daß auch in vivo eine AK-Bildung stattfindet.

Die bei der folgenden AG-AK-Reaktion frei werdenden Stoffe haben histaminähnliche Wirkung und sind seiner Ansicht nach verantwortlich für die klinisch nach einer Verbrennung in späteren Tagen zu beobachtenden Symptome eines protrahierten Schockzustandes.

Russische Autoren (N. A. FEODOROV zit. n. KOSLOWSKI) wiesen in der Haut von verbrannten Hunden toxische Eiweißverbindungen nach, deren wäßrige Extrakte Kaninchen bei i. v. Injektion töteten. Diese Wirkung kann durch die Gabe von Heparin verhindert werden. Seren von Hunden, die eine Verbrennung überstanden hatten sowie von gesunden Tieren, welche mit dem Serum von Verbrannten passiv immunisiert worden waren, hatten eine augenfällige Schutzwirkung. Auch aus der Human-Medizin berichten die Autoren über eine Schutzwirkung. Bei Gabe von Verbranntenserum sollen die Symptome der Verbrennungskrankheit gelindert und die Prognose verbessert werden.

II

1. Die folgenden Tierversuche wurden unter der Fragestellung durchgeführt:

Kann man im Tierversuch über die rein klinischen Beobachtungen hinaus nachweisen, daß dem Verbranntenserum eine Schutzwirkung zukommt, etwa durch eine Änderung der AK-Bildung?

2. Wir gingen bei den Tierversuchen von der Voraussetzung aus, daß die strukturell veränderten Eiweißkörper, denen eine antigene Valenz zugeschrieben wird, im Brandblasenserum zu finden sind. Es wurden insgesamt 12 weibliche, 2,5-3 kg schwere, ad libidum gefütterte Kaninchen in 4 verschiedene Versuchsanordnungen einbezogen.

a) Methode:

Den Tieren wurde nach wechselndem Schema Brandblasenserum i. p., Freud's Adjuvans s. c., Verbranntenserum und Normalserum i. v. injiziert. Das verwendete Brandblasenserum war ein Mischserum aus den zu verschiedenen Zeitpunkten und von verschiedenen Patienten gewonnenen Brandblasenpunktaten. Bei dem Verbranntenserum handelte es sich um ein Serum, das im Ouchterlony-Test eine Präzipitation gegen das Serum aus Brandblasen der selben Patienten gezeigt hatte und somit nachweislich antikörperhaltig war. Das Normalserum stammte von gesunden freiwilligen Spendern.

b) Nachweisverfahren:

Den Versuchstieren wurde zu verschiedenen Zeitpunkten durch Punktion der Ohrvene Blut abgenommen, und das Serum wurde zum Nachweis einer eventuell eingetretenen AK-Bildung im Ouchterlony-Test angesetzt gegen:

α) Brandblasenserum

β) Verbranntenserum

γ) Normalserum

Ouchterlony-Test:

Entfettete Objektträger werden mit einem 1,5 %igen Gel, hergestellt durch Aufkochen von Agar der Behring-Werke, beschickt. Nach CROWLE fördert die Gegenwart von Elektrolyten die Präzipitation; daher werden dem Agar 1/3 Michaelispuffer pH 7,8 auf 2/3 Aqua dest. zugesetzt. Auf den Objektträger werden 3,5 ml der Gelmasse aufgetragen. Nachdem die Masse erstarrt ist, wird eine zentral ausgestanzte Rinne mit dem Antiserum - in diesem Fall Brandblasenserum, Verbranntenserum oder Normalserum - beschickt. In 5 ausgestanzte Löcher von 2 mm Durchmesser wird das im Verhältnis 1:1, 1:2 usw. bis 1:256 verdünnte Serum der einzelnen Versuchstierreihen gegeben. Die Objektträger werden dann in eine feuchte Kammer gestellt. Beide Substanzen diffundieren in dem Agargel und es entsteht, treffen ein AG und sein AK aufeinander, eine Präzipitationslinie. Diese zeigt sich nach etwa 2 Tagen.

Um das Testergebnis auszuwerten wurde die Zahl der Präzipitationslinien bei Testanordnung

α (Tierserum d. Versuchsreihe - Brandblasenserum),

β (Tierserum d. Versuchsreihen - Verbranntenserum) und

γ (Tierserum d. Versuchsreihen - Normalserum) jeweils ausgezählt und

für das Serum jeder Versuchsreihe einzeln in eine zahlenmäßige Relation gebracht. Auf diese Weise ist ein Ergebnisvergleich zwischen den 4 verschiedenen Versuchsreihen möglich.

c) Versuchsbeschreibung und Versuchsergebnis:

Grundversuch 1

Tiere	Tage										14										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	—	—	—	—	—	—	×	—	—	×	×	—	—	—	×	—	—	—	—	×	—
2	—	—	—	—	—	—	×	—	—	×	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	×	—	—	×	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— = Injektion von Brandblasenserum

× = Blutentnahme

Menschliches Brandblasenserum wurde 3 Kaninchen i. p. injiziert.

Modus: 0,5 ml Brandblasenserum auf 8 ml Aqua dest. Die Verdünnung mit Aqua dest. erfolgte, weil so eine verzögerte peritoneale Resorption stattfindet, die zu besserer Sensibilisierung führen soll.

Insgesamt wurden 5 Injektionen gegeben mit jeweils eintägiger Pause.

Bei einem Tier dieser Versuchsreihe wurden nach 12-tägiger Unterbrechung die 5 Injektionen in gleicher Stärke und in gleichem zeitlichen Rhythmus wiederholt. Den Tieren wurde am 7., 10. und 14. Versuchstag, dem Tier, das 2 Injektionsserien erhielt, zusätzlich am 21. und 28. Tag Blut abgenommen.

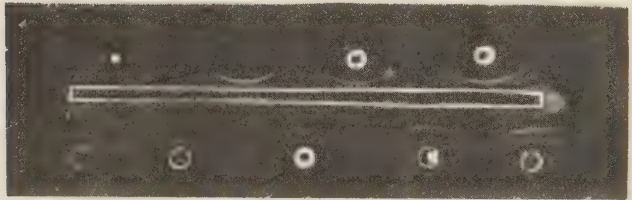
Das den Tieren entnommene Serum zeigt im Ouchterlony-Test gegen alle 3 Seren (Brandblasenserum, Verbranntenserum, Normalserum) eine Präzipitation. Es erfolgte also eine AK-Bildung gegen alle 3 Seren. Die durchschnittliche Zahl der Präzipitationslinien des Versuchstierserums gegen α) Brandblasenserum, β) Verbranntenserum, γ) Normalserum verhält sich wie α) 2: β) 3: γ) 4.

Ouchterlony-Test:

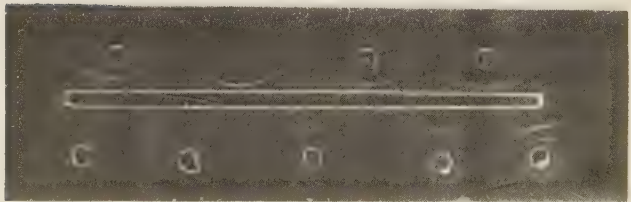
Testbilder zu Grundversuch 1 vom 28. Versuchstag



α (Versuchstierserum-Brandblasenserum)



β (Versuchstierserum-Verbranntenserum)



γ (Versuchstierserum-Normalserum)

Grundversuch 2

Tiere	Tage																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30									
1	—						X		X		X		X	—						X										
2	—						X		X		X																			
3	—						X		X		X																			

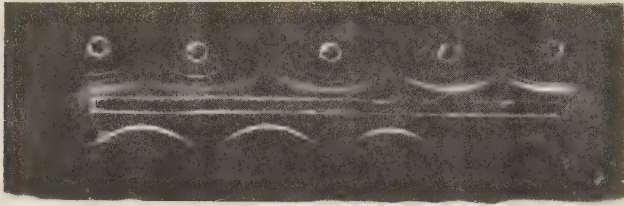
- = Injektion von Brandblasenserum
- / = Injektion von Freud's Adjuvans
- X = Blutentnahme

In dieser Versuchsreihe wurde mit 3 Kaninchen genauso verfahren wie in Grundversuch 1, mit dem Unterschied, daß den Tieren bei der ersten i. p. Injektion zusätzlich jeweils 4 Quaddeln mit Freud's Adjuvans gesetzt wurden.

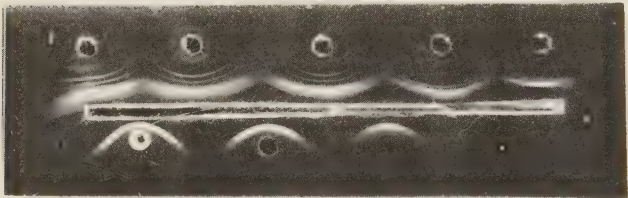
Im Ouchterlony-Test wird hier die erfahrungsgemäße Tatsache bestätigt, daß mit Freud's Adjuvans die AK-Synthese verstärkt wird. Das Versuchsergebnis zeigt Übereinstimmung mit dem Ergebnis der Versuchsreihe 1, mit dem Unterschied, daß die AK-Bildung insgesamt verstärkt ist. Die durchschnittliche Zahl der Präzipitationslinien im Ouchterlony-Test verhält sich wie α) 4 : β) 5 : γ) 5. Weiter lassen sich die AK im Kaninchenserum früher nachweisen als in Versuchsreihe 1.

Ouchterlony-Test:

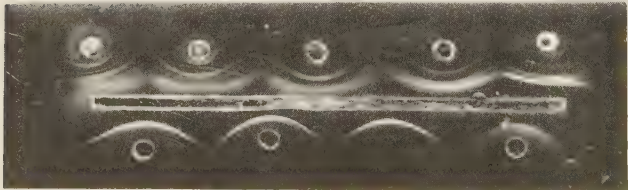
Testbilder zu Grundversuch 2 vom 28. Versuchstag



α (Versuchstierserum-Brandblasenserum)



β (Versuchstierserum-Verbranntenserum)



γ (Versuchstierserum-Normalserum)

Versuchsreihe 3
Tage



- = Injektion von Brandblasenserum
- ← = Injektion von antikörperhaltigem Patientenserum
- × = Blutentnahme
- + = Exitus

Bei der dritten Versuchsreihe wurde 3 Kaninchen Brandblasenserum und nachweislich antikörperhaltiges Patientenserum gespritzt.

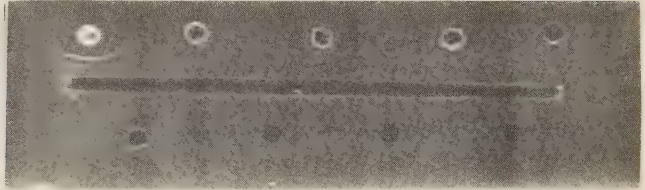
Der Nachweis wurde dadurch geführt, daß im Ouchterlony-Test, ausgeführt von H. HÜNER, eine Präzipitation zwischen Brandblasenserum und Blutserum von Verbrannten zu sehen war.

Modus: 0,5 ml Brandblasenserum auf 8 ml Aqua dest. i. p. und zusätzlich 6 ml antikörperhaltiges Patientenserum i. v.. Das erste Tier erhielt insgesamt 7 Injektionen, jeweils Brandblasenserum und antikörperhaltiges Serum gleichzeitig an einem Tag und antikörperhaltiges Serum am folgenden Tag. Dieses Tier starb kurz nach der 7. Injektion unter schweren Krämpfen. Ein zweites Tier dieser Versuchsreihe wurde am 4. Versuchstag tot im Käfig aufgefunden. Das 3. Tier bekam 4 kombinierte Injektionen (Brandblasenserum + antikörperhaltiges Serum) und dreimal antikörperhaltiges Serum allein injiziert. Jeweils am 7., 14. und 21. Tag wurde Blut entnommen.

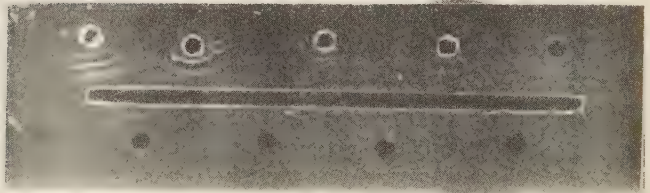
Im Ouchterlony-Test zeigt sich kein gravierender Unterschied in der Präzipitationsstärke gegen die 3 Antiseren. Die durchschnittliche Zahl der Präzipitationslinien verhält sich wie α) 4: β) 4: γ) 4. Die AK-Synthese erfolgt wie ersichtlich im Vergleich zu den beiden Grundversuchen verstärkt. Sie läßt sich außerdem früher nachweisen.

Ouchterlony-Test:

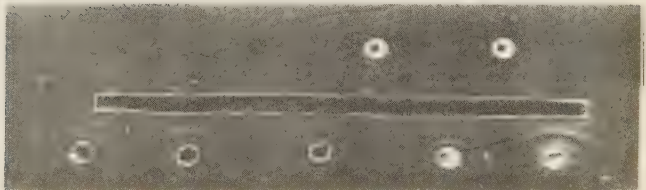
Testbilder zu Versuchsreihe 3 vom 21. Versuchstag



α (Versuchstierserum-Brandblasenserum)



β (Versuchstierserum-Verbranntenserum)



γ (Versuchstierserum-Normalserum)

Versuchsreihe 4																														
Tiere	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	Tage								
1	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	X																			
2	→	→	→	→	→	→	+				X																			
3	→	→	→	→	→	→	→	→	→	X	X																			

— = Injektion von Brandblasenserum

→ = Injektion von Normalserum

× = Blutentnahme

† = Exitus

In der 4. Versuchsreihe wurde 3 Kaninchen zu dem Brandblasenserum statt des Verbranntenserums, wie in Versuchsreihe 3, Normalserum injiziert.

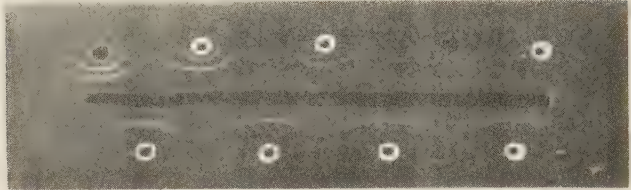
Modus: 0,5 ml Brandblasenserum auf 8 ml Aqua dest. i.p. und 6 ml Normalserum i.v.. Es erfolgte jeweils eine kombinierte Injektion (Brandblasenserum + Normalserum) an einem Tag und eine Injektion von Normalserum am darauf folgenden, dies in fortlaufendem Wechsel.

Ein Tier dieser Versuchsreihe wurde am 7. Versuchstag tot im Käfig gefunden. Das erste Tier erhielt 5 kombinierte Injektionen und 4 Injektionen Normalserum allein. Diesem Tier wurde am 7., 14. und 21. Tag Blut abgenommen. Das dritte Tier bekam insgesamt zweimal 9 Injektionen, wobei zwischen der ersten und der zweiten Serie eine Pause von 12 Tagen lag. Diesem Tier wurde am 7., 10., 14., 21. und 28. Tag Blut entnommen.

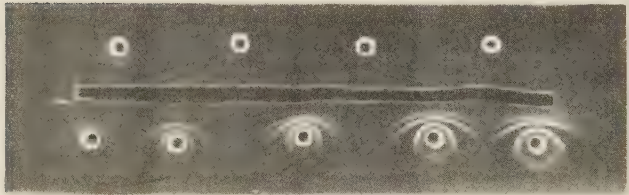
In dieser Versuchsreihe zeigt sich, daß auch hier die AK-Bildung früher einsetzt und verstärkt erfolgt. Die durchschnittliche Zahl der Präzipitationslinien verhält sich wie α) 5: β) 5: γ) 5.

Ouchterlony-Test:

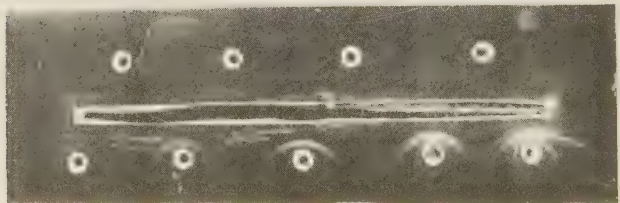
Testbilder zu Versuchsreihe 4 vom 14. Versuchstag



α (Versuchstierserum-Brandblasenserum)



β (Versuchstierserum-Verbranntenserum)



γ (Versuchstierserum-Normalserum)

d) Diskussion:

Die Ergebnisse der beiden Grundversuche erlauben eine Aussage zu der Frage: Bilden Kaninchen überhaupt AK auf die Injektion von Brandblasenserum? Das Ergebnis der Versuchsreihe 3 dient der Beantwortung der Hauptfragestellung: Läßt sich im Tierversuch eine Schutzwirkung des Verbranntenserums nachweisen etwa dadurch, daß die AK-Bildung durch gleichzeitige Gaben des auf das AG passenden AK irgendwie verändert wird? Die Ergebnisse der Versuchsreihe 4 lassen einen zusätzlichen Vergleich zwischen der Wirkung von Normalserum anstelle von Verbranntenserum zu.

Beide Grundversuche zeigten ein positives Ergebnis, alle Tiere bildeten AK. Mit den Ergebnissen der Versuchsreihe 3 lassen sich unsere theoretischen Überlegungen nicht bestätigen. Wir gingen von der Vorstellung aus, daß nach Gabe eines AG (Brandblasenserum) der anschließend verabreichte passende AK (Verbranntenserum) das AG abfangen und neutralisieren könnte. Da es uns nicht gelang, bei verbrannten Kaninchen AK nachzuweisen (unveröffentlichte Versuche), waren wir darauf angewiesen, Humanserum zu verwenden und das Kaninchen als Trägartier zu benutzen. Wir waren uns bewußt, daß wir sowohl mit dem Brandblasenserum wie mit dem Verbranntenserum den Versuchstieren zusätzlich noch andere Eiweißkörper injizierten, die ihrerseits eine AK-Bildung auslösen müssen. Wir beobachteten in der Versuchsreihe 3 und 4, daß 3 Tiere mit den Zeichen einer Anaphylaxie eingingen. Dies und die gegenüber den Versuchen 1 und 2 erhöht und verfrüht einsetzende Präzipitation sind sicher Folge der qualitativ und quantitativ größeren Eiweißzufuhr in den Versuchsreihen 3 und 4.

Es bleibt lediglich die Beobachtung, daß bei den Tieren der Versuchsreihe 3 eine geringere Bandenbildung zu sehen war als in Versuchsreihe 4. Beim Vergleich dieser beiden Versuchsreihen könnte man den Schluß ziehen, daß eine Abschwächung der AK-Bildung durch die gleichzeitige Gabe von antigen- und antikörperhaltigem Serum stattfand. Berücksichtigt

man aber die unterschiedliche Bereitschaft der Tiere zur AK-Bildung und die geringe Differenz des Befundes, so ist nach diesen Ergebnissen die aufgeworfene Frage zu verneinen. Eine größere Versuchsserie, die sicher aufschlußreich wäre, konnte nicht durchgeführt werden, da hierzu nicht genügend Brandblasenserum zur Verfügung stand.

3. Zur Beantwortung der zweiten Fragestellung:

Kann man an Hand der durch die Tierpassage gebildeten AK eine Aussage darüber machen, ob es sich bei dem Brandblasenserum um ein reines Exsudat handelt, oder ob es weitgehend veränderte Eiweißkörper und damit AK enthält, wurden die folgenden papierelektrophoretischen - und immunelektrophoretischen Untersuchungen angestellt.

a) Papierelektrophorese

Versuchsbeschreibung:

Es wurde je zweimal 0,05 ml Brandblasen-Einzelserum und Brandblasen-Mischserum auf ein entsprechendes Filtrierpapier aufgetragen. In einer Michaelis-Pufferlösung (pH 8,6), bei einer Stromstärke von 1 mA, einer Spannung von 100 V und einer Laufzeit von 24 h wurden die Seren in die einzelnen Eiweißfraktionen nach ihrer jeweiligen elektrischen Wanderungsgeschwindigkeit aufgetrennt. Die Papierstreifen wurden nach der Amido-Schwarz-Färbung gefärbt, mit Methanol-Eisessig entfärbt und photometrisch ausgewertet.

Ergebnis:

Sowohl im Brandblasen-Einzelserum als auch im Brandblasen-Mischserum scheinen sich alle Eiweißfraktionen des Normalserums darstellen zu lassen. Vergleicht man jedoch den Gesamteiweißwert von Normalserum und Brandblasenserum, so findet man mit etwa 4 g% eine deutliche Verminderung im Brandblasenserum.

b) Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese ist eine empfindliche Methode um eine AG-AK-Reaktion sichtbar zu machen. Der Bereich und die Zahl der auftretenden

Banden erlauben einen Rückschluß auf die Zusammensetzung der Seren. Die Bildung der Präzipitationslinien ist jedoch von einem optimalen AG-AK-Verhältnis abhängig. Finden sich Serum-Globuline in nur geringer Konzentration, so ist bereits eine nur mäßige Verminderung ausreichend, daß der Schwellwert ihrer Nachweisbarkeit in der Immunelektrophorese unterschritten wird (S. ZIMMERMANN).

Versuchsbeschreibung:

Es wurden in der Immunelektrophorese angesetzt:

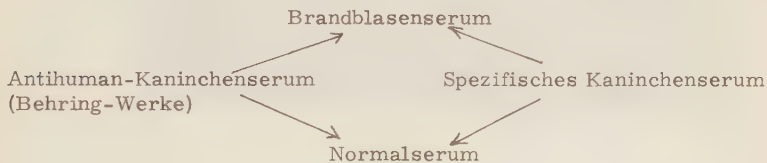
1. Antihuman-Kaninchenserum d. Behring-Werke gegen

α) Brandblasenserum, β) Normalserum.

2. Spezifisches Kaninchenserum gegen

α) Brandblasenserum, β) Normalserum.

Von jeder Versuchsanordnung wurden jeweils 3 Immunelektrophoresen angesetzt.



Technik:

Für die Immunelektrophorese wurden Objektträger mit 3,5 ml Agar-Gel beschickt. Nach dem Erstarren der Masse wurde eine zentrale Rinne und oberhalb und unterhalb davon je ein Loch mit einem Durchmesser von 3 mm ausgestanzt. In diese Löcher wurde Brandblasenserum oder Normalserum gegeben. Die Objektträger wurden in ein elektrisches Spannungsfeld gebracht und die Seren so nach der Wanderungsgeschwindigkeit ihrer einzelnen Fraktionen aufgetrennt (Spannung: 100 V, Laufzeit: 50 Min.). Die zentrale Rinne wurde dann mit dem Serum der Behring-Werke bzw. mit dem spezifischen Kaninchenserum beschickt und die Objektträger wurden für 2 bis 3 Tage in eine feuchte Kammer gestellt.

Das spezifische Kaninchenserum wurde folgendermaßen gewonnen:

2 Tiere erhielten 5 Injektionen mit je 0,5 ml Brandblasenserum auf 8 ml Aqua dest. i. p. ein über den anderen Tag. Nach 7-tägiger Pause erhielten die Tiere nochmals 3 Injektionen mit jeweils eintägiger Unterbrechung. Es handelte sich also um ein Anti-Brandblasenserum.

Das verwendete Brandblasenserum war ein Mischserum aus menschlichen Brandblasenpunktaten, die zu verschiedenen Zeiten entnommen worden waren.

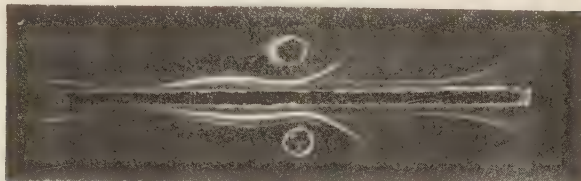
Abbildung der Immunelektrophoresen

BB-S = Brandblasenserum

N-S = Normalserum

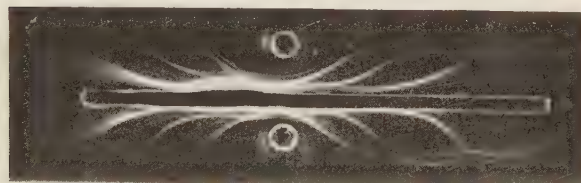
Antihuman-Kaninchenserum v. Behring---BB-S

1. α)



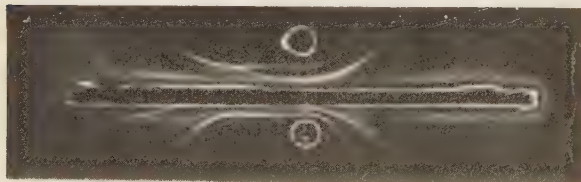
Antihuman-Kaninchenserum v. Behring---N-S

β)



Spezifisches-Kaninchenserum---BB-S

2. α)



Spezifisches-Kaninchenserum---N-S

β)

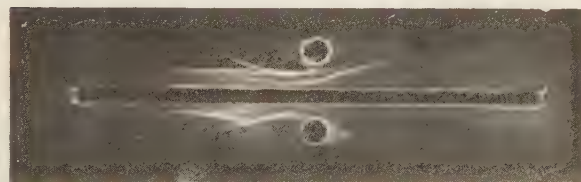
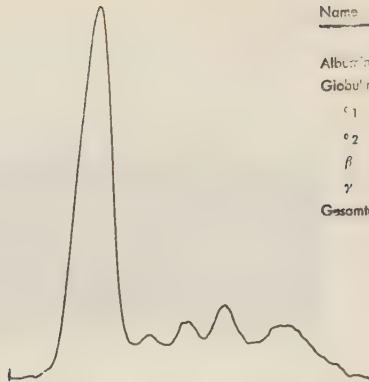


Abbildung der Papier- elektrophoresen

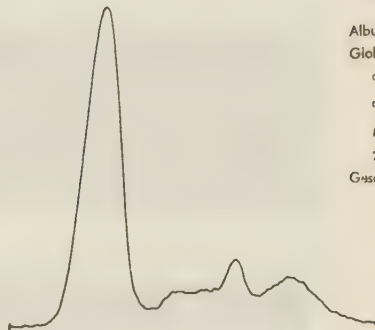
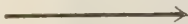
I. Brandblasen-Einzelserum



Station	Datum
Name	T
Albumin:	rel% 61.5 g% 2.9
Globulin:	
c ₁	5.0 0.2
c ₂	2.0 0.3
β	11.5 0.5
γ	15.0 0.8
Gesamteiweiß:	4.3



II. Brandblasen-Mischserum



Station	Datum
Name	n
Albumin:	rel% 60.0 g% 2.9
Globulin:	
c ₁	2.5 0.1
c ₂	6.5 0.2
β	10.0 0.3
γ	17.0 0.4
Gesamteiweiß:	3.0



III. Elektrophorese v. Normalserum (Müller- Seifert)

	rel%	g%
Albumin:	61,46	
Globulin:		
	3,08	
	7,46	
	10,64	
	16,64	
Gesamteiweiß:		7-8

c) Diskussion:

Bei der Auswertung der Immunelektrophoresen kommt man zu folgendem Resultat:

I. In Versuchsanordnung 1 α) (Anti-Normalserum---Brandblasenserum) sind qualitativ und quantitativ weniger Banden dargestellt als in Versuchsanordnung 1 β) (Anti-Normalserum---Normalserum). Dies läßt die Folgerung zu, daß im Brandblasenserum Eiweißkörper fehlen, die im Normalserum zur Darstellung kommen.

II. In Versuchsanordnung 1 α) (Anti-Normalserum---Brandblasenserum) finden sich weniger Banden als in Versuchsanordnung 2 α) (Anti-Brandblasenserum---Brandblasenserum). Daraus kann man schließen, daß im Brandblasenserum veränderte Eiweißkörper vorhanden sein müssen, die im Normalserum nicht zu finden sind.

III. In Versuchsanordnung 1 β) (Anti-Normalserum---Normalserum) kommen mehr Banden zur Darstellung als in Versuchsanordnung 2 β) (Anti-Brandblasenserum---Normalserum). Dieses Ergebnis liefert den negativen Beweis dafür, daß im Brandblasenserum noch andere Eiweißkörper zu finden sind als im Normalserum, denn es kommen nur die AK des Anti-Brandblasenserums zur Präzipitation, die mit den entsprechenden AG des Normalserums korrespondieren.

Diesen Versuchsergebnissen nach kann man sagen, daß im Brandblasenserum zusätzlich veränderte Eiweißkörper vorhanden sein müssen, die im Normalserum nicht gefunden werden und die als AG wirken können.

III. ZUSAMMENFASSUNG

Bei dem Vergleich der Ouchterlony-Testergebnisse läßt sich keine positive Aussage darüber machen, daß dem Verbranntenserum in unseren Tierversuchen eine Schutzwirkung im Sinne einer Änderung der AK-Bildung zukommt. Berücksichtigt man zusätzlich die unterschiedliche Bereitschaft der Tiere zur AK-Bildung, so ist die minimale Differenz in der Präzipitationsstärke zugunsten der mit Normalserum behandelten Tiere im Vergleich zu den mit Verbranntenserum behandelten nicht deutlich genug. Man kann mit der nur unwesentlich geringeren Präzipitation bei Gabe von Verbranntenserum nicht die theoretische Vorstellung von einer Abschwächung der AK-Bildung bei gleichzeitiger Gabe von antigen- und antikörperhaltigem Serum beweisen.

Die zweite Fragestellung läßt sich nach den immunelektrophoretischen Untersuchungsergebnissen dahingehend beantworten, daß es sich bei dem Brandblasenserum nicht um ein reines Exsudat handelt.

Mit der Papierelektrophorese läßt sich nur ein geringerer Gesamteiweißgehalt des Brandblasenserums nachweisen. Aus den immunelektrophoretischen Untersuchungen geht jedoch hervor, daß es im Vergleich zum Normalserum strukturell veränderte Eiweißkörper mit möglicher antigenener Potenz enthält. Dieses Ergebnis dürfte ein weiterer Beweis für die Möglichkeit eines immunologischen Geschehens im Verlauf der Verbrennungskrankheit sein, wie es von den eingangs genannten Autoren angenommen wird.

Herrn Privatdozenten Dr. Hüner danke ich für die Überlassung des Themas und für seine wertvolle Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. Wachsmuth spreche ich für die Übernahme des Korreferates meinen ergebenen Dank aus.

LITERATURVERZEICHNIS

- | | |
|---------------------------------------|---|
| MIESCHER, P. und
K. O. VORLAENDER: | Immunopathologie in Klinik u. Forschung.
Thieme Verlag Stuttgart (1961) |
| GRABAR, P.: | Immunopathologie in Klinik u. Forschung.
Thieme Verlag Stuttgart (1961) |
| GREUER, W.: | Z. exper. Med. 111, 1 (1943) |
| HEYDE und VOGT: | Z. exper. Med. 1, 59 (1913) |
| KAPSENBERG, J.: | Z. Immunitätsforschung 12 (1912) |
| ROSENTHAL, S. R.: | The "Toxin-Antitoxin" Phenomenon in
Burned and Injured Human Subjects.
J. Amer. Med. Ass. Vol. 174 No. 8 (1960) |
| HAFERKAMP, O.: | Langenbecks Archiv f. klin. Chirurgie
301, 118 (1962) |
| KOSLOWSKI, L.: | Dtsch. med. Wschr. 88, I 233 (1963)
Die Verbrennungskrankheit. |
| KOSLOWSKI, L.: | Autolyse-Krankheiten in der Chirurgie.
Thieme Verlag Stuttgart (1959) |
| KOSLOWSKI, L. und
B. URBARSHECK: | Klin. Wschr. 40, 853 (1962)
Zur Frage der immunologischen Um-
stimmung u. d. Schutzwirkung v. Rekon-
valeszetenserum nach Verbrennungen. |
| HÜNER, H.: | Der Chirurg, 3, Jg. 36 (1965)
Autointoxikation u. Autoimmunisation. |
| ZIMMERMANN, S.: | Klin. Wschr., 3, Jg. 39 (1961)
Immunelektrophoretische Untersuchun-
gen von Ödemflüssigkeit. |

Lebenslauf

Am 19. Februar 1940 wurde ich als Tochter des Arztes Dr. Alois Schmitz und seiner Frau Hilde geb. Krings in Ahrweiler geboren.

Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Volksschule in Saffig, Kreis Andernach. Seit 1950 war ich Schülerin des neusprachlichen Gymnasiums der Ursulinen in Koblenz, wo ich am 22. Februar 1960 das Abitur bestand. Seit dem Sommersemester 1960 studierte ich an der Universität in Mainz Medizin und legte dort am 5. März 1963 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach dem 1. klinischen Semester in Mainz studierte ich im Wintersemester 1963/64 an der Universität Wien. In Würzburg, wo ich seit dem Sommersemester 1964 immatrikuliert war, beendete ich das Medizinstudium mit dem Staatsexamen am 30. Juli 1966.

Die ersten dreieinhalb Monate meiner Medizinalassistentenzeit verbrachte ich an der Universitäts-Hautklinik in Würzburg. Z. Zt. bin ich in der chirurgischen Abteilung des St. Josefs-Hospitals in Wiesbaden als Medizinalassistentin beschäftigt.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbst verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine anderen Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner Seite ein Dissertationsthema zur Bearbeitung erhalten habe.

Smile Kinnick

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Burkarderstraße 9